



MANUAL DE ACOGIDA MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

Departamento 6. Arnau Vilanova-Llíria. Valencia

Supervisora Microbiología

M^a José Campoy González - 409242

7^a Planta del Edificio del Hospital

409223 Recepción

409224 Despacho facultativos

Imicro_arnau@gva.es

Os damos la bienvenida y esperamos que os sintáis parte activa del servicio para lograr alcanzar los niveles de calidad que merecen nuestros pacientes, en un ambiente de colaboración y de crecimiento personal y profesional.

El Servicio de Microbiología tiene como objetivo resolver los problemas patogénicos, terapéuticos y epidemiológicos que plantean las infecciones.

La Unidad de Microbiología es un laboratorio tecnológicamente avanzado y que atiende a toda la población del Departamento. Su principal peculiaridad es la necesidad de aislamiento y seguridad, siendo fundamental el correcto manejo de las muestras y cultivos.

Situado en la 7ª planta, el laboratorio está distribuido en diferentes áreas:

- Área administrativa: se encuentra en el pasillo, y está compartida con los servicios de Análisis Clínicos y Hematología,
- Área de recepción de muestras.
- Área de bacteriología, un espacio diáfano, distribuido funcionalmente en bancadas. En cada una de ellas se realiza la lectura y posterior procesamiento de los estudios bacteriológicos de orinas, heces, exudados, muestras genitales, hemocultivos, líquidos estériles, muestras respiratorias, estudio de colonizaciones y controles ambientales.
- El procesamiento primario de las muestras se lleva a cabo en el mismo espacio, en dos campanas de flujo laminar de tipo 2.
- En el área común también se realizan las técnicas serológicas. En este espacio contamos con dos ordenadores de consulta y trabajo, junto a todo el aparataje específico para la inmunología infecciosa.
- Existen dos áreas separadas para la realización de las técnicas de biología molecular, con aparatos y un ordenador de consulta.
- La unidad de Micobacterias dispone de una zona especialmente diseñado y separado del resto, con entrada independiente, doble puerta de acceso y presión negativa.

- Existe un pequeño espacio para la limpieza de material y eliminación de residuos. Disponemos de un autoclave para la esterilización del material si se necesita.
- Un despacho compartido para facultativos y la jefa de Sección.
- Hay un área pequeña con neveras y zona de almacenaje.
- Cuarto oscuro para un microscopio de fluorescencia.
- Una zona de pasillo con dos armarios de almacenaje, y cámara frigorífica.
- El aseo está en el pasillo, y es común al resto de laboratorios.
- El sistema de gestión del laboratorio es el GestLab (INDRA).
- Se dispone de aparatos e instrumental necesario para el correcto cumplimiento de nuestra Cartera de Servicios.

Recursos Humanos

- 13 TEL
- 1 TEL función de Coordinadora
- 5 FED
- Jefa de Sección
- 1 Administrativa

Horario

La actividad del laboratorio es de lunes a viernes 24 horas y los sábados y domingos de 8 a 22 horas, los 365 días al año.

Funciones del Personal

Los Responsables de las Unidades Funcionales (RUF) deben desarrollar, supervisar, validar e interpretar los resultados obtenidos, para emitir los informes.

La distribución de las UF se lleva a cabo teniendo en cuenta la carga de trabajo y la idoneidad, habilidades y preferencias de cada facultativo, pero todos tienen capacidad de sustituirse entre sí.

Los 14 TEL se ocupan de las etapas preanalíticas y analíticas del proceso diagnóstico, repartido en las siguientes Unidades Funcionales.

Relación de las Unidades Funcionales (UF)

- Recepción y procesamiento primario de las muestras.
- Urgencias.
- Bacteriología 1: Hemocultivos, Estudio de Vigilancia para el control de la infección nosocomial, Controles ambientales.
- Bacteriología 2: Exudados, líquidos estériles, biopsias, Infecciones de Transmisión Sexual (ITS).
- Bacteriología 3: Urinocultivos y Coprocultivos. Muestras respiratorias.
- Unidad de Micobacterias.
- Unidad de Micología.
- Parasitología.
- Inmunología Infecciosa
- Microbiología Molecular.

Recepción de muestras

La persona responsable es un TEL. Su trabajo consiste en el registro de las muestras que van entrando de forma continua en el laboratorio, cotejando y fechando todos los volantes. En la conciliación, el control de entrada y la solución de las incidencias que se producen, también colabora activamente la administrativa.

Una vez conciliadas las muestras, el SIL genera unas etiquetas para numerar todas las tareas que hay que efectuar. Las muestras se derivan a las secciones correspondientes ya perfectamente identificadas.

Además se encarga:

- Apoyo a la campana de siembras.
- Guardar los pedidos recibidos.
- Controlar existencias de reactivos relacionados con el área de siembras.
- Preparar las muestras para envíos externos del área de Microbiología.

Siembras

En esta sección trabaja un TEL, que cada día inicia su trabajo con el procesamiento de los hemocultivos positivos que dan alerta en el equipo (BACTEC de Beckton Dickinson), a los que realiza subcultivos en medio

sólido y tinción de Gram para el examen de la muestra. Se encarga de archivar los volantes de hemocultivo recibidos el día anterior. Pero además:

- Se ocupa del mantenimiento diario, semanal y mensual de la máquina de tinciones de Gram (PREVIcolor BioMérieux).
- Siembra las muestras que se reciben a lo largo de la mañana, excepto las respiratorias.
- Realiza la siembra de los caldos de selenito de las heces a las 24 horas.
- Lleva a cabo la limpieza de las estufas una vez por semana.
- Se ocupa de los controles y el mantenimiento de la máquina de cribado de orinas (Sysmex UF-1000)
- Almacena las muestras procesadas el día anterior en el frigorífico.

Urgencias

1 TEL en horario de mañana, otro de tarde y otro de noche.

- Realizan técnicas rápidas para la detección de antígenos: *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Rotavirus* y *Adenovirus*, *Helicobacter pylori*.
- Montan técnicas de PCR urgentes: gripe, SARS-COV2, meningitis y toxina de *Clostridium difficile*.
- Controlan las existencias de los reactivos que se le indiquen.
- Apoya al TEL de recepción de muestras y al de la siembra.

Mesa de Bacteriología 1

En este puesto de trabajo una TEL y una FED se ocupan de la lectura de los cultivos realizados sobre las siguientes muestras:

- ✓ Hemocultivos.
- ✓ Catéteres.
- ✓ Controles de esterilidad ambiental.
- ✓ Colonizaciones o controles de vigilancia de multirresistentes.

La facultativo interpreta los cultivos, programa el trabajo y valida los resultados. El TEL se ocupa de:

- Ordenar y distribuir las placas de cultivo para facilitar su lectura.
- Acompañar en la lectura al facultativo responsable.

- Preparar las tarjetas de identificaciones y antibiogramas de ambos sistemas, Microscan (Beckman Coulter) y Vitek 2 (BioMèrieux), dependiendo del aislamiento que se haya producido.
- Realizar pruebas bioquímicas manuales para la identificación de algunas especies bacterianas.
- Preparar extensiones y las tinciones de Gram de las colonias que requieran una interpretación microscópica.
- Inocular galerías API (BioMèrieux) para identificación de *Haemophilus*, *Neisseria*, *Moraxella*, entre otros.
- Controlar la existencia de los reactivos que están en su área de trabajo.
- Realizar el trabajo que se deriva de la lectura de las muestras respiratorias de vías bajas.

Mesa de Bacteriología 2

En este puesto trabajan una TEL y una facultativa. Se lleva a cabo la lectura de los cultivos y el trabajo resultante del cultivo de las siguientes muestras:

- ✓ Exudados diversos.
- ✓ Líquidos biológicos.
- ✓ Muestras genitales.
- ✓ Cribado de *Streptococcus agalactiae*.
- ✓ Respiratorias altas.
- ✓ Micología.

El facultativo de la sección se encarga de las visiones directas y tinciones de Gram. Además, se ocupa de la lectura e identificación de los hongos. Valida los resultados generados y decide la conveniencia o no del envío de muestras a laboratorios externos.

El TEL por su parte, realiza las siguientes tareas:

- Ordenar y distribuir las placas de cultivo para facilitar su lectura.
- Lectura con el facultativo responsable.
- Preparación de las tarjetas de identificación y antibiograma con los sistemas Microscan (Beckman Coulter) y Vitek 2 (BioMèrieux) de los aislamientos generados en esta unidad.

- Realización de pruebas bioquímicas manuales para la identificación de algunas especies bacterianas.
- Preparación de disociaciones teñidas con azul de lactofenol, para la identificación de hongos.
- Se encarga además del cribado de las orinas (Sysmex UF-1000).
- Control y mantenimiento de las máquinas de identificación.
- Control de las existencias de los reactivos del área en el que trabaja.

Mesa de Bacteriología 3

En este puesto un facultativo se ocupa de las muestras de orinas y heces, y otro facultativo de las muestras de vías respiratorias bajas. Un TEL realiza el trabajo resultante de ambas lecturas, además de:

- Ordenar y distribuir las placas de cultivo para facilitar su lectura.
- Realizar la lectura con cada uno de los facultativos responsables.
- Preparar las tarjetas para identificaciones y antibiogramas con el sistema Microscan y Vitek 2 de los aislamientos generados.
- Realizar pruebas bioquímicas manuales para la identificación de algunas especies bacterianas: TSI, KLIA.
- Se encarga de la identificación y tipado de *Salmonella* mediante aglutinación directa de la cepa.
- Es responsable del control y mantenimiento de las máquinas de identificación: Microscan (Beckman Coulter) y Vitek 2 (BioMérieux).
- Control de las existencias de los reactivos del área en el que trabaja.

Unidad de Micobacterias

Requiere un trabajo con equipo de aislamiento (mascarilla y bata desechable) en un área aislada. La TEL se encarga de:

- Cultivo de muestras respiratorias en medios convencionales.
- Preparación de las muestras para la investigación de micobacterias y su procesamiento, que incluye: descontaminación, fluidificación y centrifugación.
- Inoculación de las muestras concentradas en medios de cultivo sólido (Lowenstein) y líquido (MGIT).
- Incubación de los medios en las estufas correspondientes.

- Realización de extensiones para su posterior tinción con Auramina y Ziehl-Neelsen. También realiza el cribado y los positivos son confirmados por el facultativo responsable de la sección.
- Antibiograma de Micobacterias y de Nocardias.
- Pone el autoclave 1 o 2 veces por semana.
- Prepara reactivos una vez a la semana.
- Realizar la lectura de los Lowestein una vez por semana.
- Lleva recipientes a esterilización una vez por semana.
- Controla las existencias de los reactivos de la sección.
- Realiza antibiogramas e identificación por Genotype (técnica molecular que consisten en amplificación e hibridación) para la identificación de micobacterias atípicas.
- Mantiene un cepario de las Micobacterias aisladas.

Serología o Inmunología infecciosa

En esta UF trabajan una facultativa y un técnico. Se combinan tareas automatizadas y manuales. El facultativo revisa y valida todas las peticiones solicitadas y anula aquellas que considera innecesarias, siempre bajo criterios clínicos. El TEL se encarga de las siguientes tareas:

- Realizar la recepción y registro de sueros.
- Centrifugar las muestras para su procesamiento.
- Se ocupa del mantenimiento diario, semanal y mensual de los aparatos de serología.
- Lleva a cabo el manejo de varios equipos simultáneamente:
 - Architech (Abbott)
 - Detección de Anticuerpos frente a VHB (HBsAg, HBsAc cuantificado, HBc total, HB c IgM, HBeAg, HBe Ac); Anticuerpos totales frente al VHC e IgM y totales de VHA. Detección simultánea de antígeno/anticuerpo del virus VHI tipo 1 y tipo 2.
 - Virus Epstein-Bar (VCA, EBNA)
 - Serología de SARS_CoV-2
 - *Trypanosoma cruzi* IgG
 - HTLV-II
 - Liason XL (DiaSorin)

- Toxoplasma IgG e IgM
- Parvovirus IgG e IgM
- Varicela IgG e IgM
- Citomegalovirus IgG e IgM
- Prueba treponémica (lues)
- Rubeola IgG
- Virclia (Vircell)
 - Serología de Neumonías atípicas: *Legionella*, *Chlamydia pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Mycoplasma pneumoniae*.
 - Sarampión IgG e IgM
 - Parvovirus IgG e IgM
 - Parotiditis IgG e IgM
 - Anticuerpos frente a Leishmania
 - *Rickettsia conorii*. IgG e IgM
 - IgG para diagnóstico de Hidatidosis
 - IgG e IgM frente a *Borrelia* spp
- Realiza técnicas de aglutinación específicas según demanda: VDRL, Ag de *Cryptococcus neoformans*, Inmunofluorescencia Indirecta para la fiebre Q (IFI), anticuerpos heterófilos frente al virus Epstein-Barr.
- Congelación de las muestras que lo precisen.
- Preparación y envío de muestras a laboratorios externos.
- Control de existencias de los reactivos de la sección.
- Almacena las muestras procesadas el día anterior en el frigorífico.
- Realiza la técnica de detección de Galactomanano (BioRad) una vez por semana.

Biología Molecular

Una facultativa y una TEL son las responsables de esta UF. La TEL realiza las siguientes funciones:

- Control y recepción de muestras de suero, plasma, sangre total y otros para la realización de las técnicas.
- Centrifuga las muestras.

Utiliza los siguientes aparatos:

- COBAS AMPLIPREP (Roche)

- Extracción de ácidos nucleicos
- COBAS 6800 (Roche)
 - Realiza cargas virales de VHC, VIH y VHB
 - Detección de SARS-Cov2
- COBAS 4800
 - Cribado de HPV
 - Genotipado del VHC
- CFX 96 (Werfen)
 - Genotipado de HPV
 - PCR para infecciones de transmisión sexual (Detección *Chlamydia*/*Gonococo*/*Mycoplasma*/*Ureaplasma urealyticum*/*Ureaplasma parvum*) simultáneamente
 - PCR VHS 1-2, VZ, HH6, HH8, CMV, EBV
 - PCR *Leishmania*
 - PCR *Tropheryma*
 - PCR *Coxiella burnetti*
- BDMax (Becton-Dickinson)
 - Detecta Gripe A/B/H1N1, Gripe-VRS
 - PCR *Bordetella pertussis*
 - PCR *Pneumocystis jiarovecii*
 - Toxina de *Clostridium difficile*
 - Detección de genes productores de carbapenemasas (KPC, NDM, OXA48, VIM)
 - *Mycobacterium tuberculosis* y sensibilidad a Rifampicina e Isoniacida
- Control de reactivos de Biología Molecular.
- LIAT de Roche
 - Detecta Gripe A/B/, Gripe-VRS y SARS-Cov2
- GENEXPERT
 - Detecta Gripe A/B/, Gripe-VRS y SARS-Cov2
- FilmArray BioMerieux
 - Panel sindrómico gastrointestinal, meningitis, neumonías, virus respiratorios, sepsis

- Extractores de ácidos nucleicos (MagCore, Genolute, Indimag y Qcube)

Turno de urgencias (15:00 a 8:00 horas)

Cinco personas, de forma rotatoria, se ocupan de cubrir este turno de tardes, realizando las siguientes tareas:

- Siembra de las orinas que han salido positivas en el cribado previo, o por su turbidez no llegan a pasar por la máquina de cribado.
- Siembra de alguna muestra que haya quedado pendiente de la mañana, y todo lo que vaya entrando a lo largo de la tarde.
- Centrifugan y concentran las muestras de heces para estudios parasitológicos.
- Control de existencia de reactivos de su ámbito de trabajo.
- Tinciones de Gram (automatizadas) y mantenimiento del equipo PREVIcolor (BioMérieux).
- Realizan técnicas rápidas de detección de antígenos.
- Limpieza de campana de siembras al finalizar el día.
- Preparación del carro con los medios de cultivo necesarios para la siembra del día siguiente.
- Atender a las urgencias que se presenten a lo largo de la tarde.

Supervisión

El cargo de coordinadora lo realiza una TEL. Sus funciones son las siguientes:

- Asiste a las reuniones convocadas por la Dirección de Enfermería.
- Semanalmente realiza los pedidos comprobando los albaranes una vez recibidos.
- Programación de los pedidos de reactivos, para secuenciar su llegada semanal, quincenal, mensual etc. Revisión y comprobación de estos a su llegada.
- Recuento del material para informar el consumo al servicio de suministros.
- Realizar pedidos urgentes a través del servicio de suministros.
- Colabora en la formación del personal nuevo incorporado al servicio.
- Confecciona las listas de turnos del personal con sus correspondientes libranzas.

- Supervisa que el trabajo se realice correctamente, cuando no dependa directamente del facultativo.
- Hace partes de mantenimiento
- Cubre al personal que esté de baja, libranza, vacaciones de verano, etc., en la unidad correspondiente.

Actividades interdisciplinarias

Una unidad de Microbiología debe ser un espacio dinámico, abierto y con visión de futuro. Mantenemos contacto con otras unidades dentro y fuera del hospital, para que encuentren en nosotros la colaboración necesaria para minimizar el impacto que las enfermedades infecciosas tienen sobre la población.

Docencia a Técnicos Superiores de Laboratorio (TEL/TSL)

A nuestro laboratorio acuden cada año 4 estudiantes de TSL para la realización de sus prácticas. Durante un mes se les aporta una visión general del funcionamiento de un Servicio de Microbiología y se les deja participar de forma activa en las siembras y el procesamiento de las muestras, siempre apoyados y tutelados por personal en plantilla de las distintas unidades funcionales.

Docencia Pregraduada

El Hospital Arnau de Vilanova tiene conciertos con universidades como el CEU San Pablo, y con la Universidad de Valencia.

Control de Calidad Externo

El servicio está inscrito en el CC Externo de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), sufragado por nuestro hospital, para garantizar la validez de los resultados.

- 16 Controles de Bacteriología/año
- 2 Controles de Micobacterias/año
- 2 Controles de Micología/año
- 4 Controles de Serología/año
- 2 Controles de Parasitología/año
- 2 Controles de Microbiología Molecular/año